

UNTERSUCHUNGEN ZUR CHEMOTHERAPIE DER
BABESIA GALAGOLATA-INFEKTION DER MAUS

Gabriele Frère

1974

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Professor Dr. J. Boch

Angefertigt unter der Leitung von: Professor Dr. H. K. Dennig

UNTERSUCHUNGEN ZUR CHEMOTHERAPIE DER
BABESIA GALAGOLATA-INFEKTION DER MAUS

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig Maximilians-Universität

München

von

Gabriele Frère

aus

Wiesbaden

München 1974

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan : Prof. Dr. E. Dahme

Referent : Prof. Dr. H. K. Dennig

Korreferent : Prof. Dr. Dr. h. c. A. Mayr

Tag der Promotion : 26. Juli 1974



MEINEN LIEBEN ELTERN

IN DANKBARKEIT GEWIDMET

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Die Infektion mit <i>Babesia galagolata</i> , <i>Babesia rodhaini</i> , <i>Babesia musculi</i> und <i>Babesia microti</i> in der Maus und ihre Behandlung (anhand der Literatur)	2
III. Eigene Untersuchungen	
A. Material und Methoden	10
B. Ergebnisse	
1. Vorversuch zur Einstellung der Parasitendichte im Inokulum	12
2. Vorversuch zur Prüfung der Verträglichkeit von Berenil ^R und Pirodia ^R	14
3. Chemotherapie der <i>Babesia gala-</i> <i>golata</i> -Infektion mit Berenil ^R (Hoechst), Pirodia ^R (Specia) und Imidocarb ^R (Burroughs Wellcome & Co.)	15
4. Chemoprophylaxe der <i>Babesia gala-</i> <i>golata</i> -Infektion mit Imidocarb ^R	19
5. Wirksamkeitskontrolle von Berenil ^R , Pirodia ^R und Imidocarb ^R bei der <i>Babesia rodhaini</i> - und der <i>Babesia</i> <i>musculi</i> -Infektion	21
IV. Besprechung der Ergebnisse	30
V. Zusammenfassung (Summary)	41
VI. Literaturverzeichnis	44

Lebenslauf

I. Einleitung

Babesia galagolata wurde erstmals beim Halbaffen (*Galago crassicaudatus*) festgestellt und experimentell auf verschiedene Nagetierarten und den Rhesusaffen übertragen. Da über die chemotherapeutische Resistenz des Parasiten bisher keine systematischen Untersuchungen vorliegen, sollte in der folgenden Arbeit die kurative und prophylaktische Wirksamkeit von Berenil^R, Pirodia^R und Imidocarb^R bei der *Babesia galagolata*-Infektion in der Maus geprüft werden. Bei den genannten Verbindungen handelt es sich um Medikamente, die bei der Behandlung von Babesiosen der Haustiere von ausgezeichneter Wirksamkeit sind. Gleichzeitig sollte anhand der vorliegenden Literatur und in eigenen Untersuchungen ein Vergleich über den Einfluß dieser Pharmaka auf die bei Mäusen bekanntesten Babesieninfektionen (*Babesia rodhaini*, *Babesia musculi*, *Babesia microti*) angestellt werden.

II. Die Infektion mit Babesia galagolata, Babesia rodhaini, Babesia musculi und Babesia microti in der Maus und ihre Behandlung (anhand der Literatur)

Babesia galagolata wurde 1973 erstmals aus Halbaffen (*Galago crassicaudatus*) isoliert und als neue Spezies beschrieben (DENNIG, 1973). Es handelt sich um eine kleine Babesienart ($0,8 - 1,9 \mu$), die sich durch Zweiteilung vermehrt.

Der Parasit ist auf Maus, Ratte und Rhesusaffen übertragbar und führt in diesen Tierarten zu hoher Parasitämie. Auch Hamster und Gerbil sind empfänglich, ohne daß es jedoch in ihnen zur starken Parasitenvermehrung kommt (DENNIG, 1973; DENNIG, HÖSL, 1973 ; HÖSL, 1974).

Babesia galagolata verursacht beim Galago und Rhesusaffen nach der Splenektomie die charakteristischen Symptome der Babesiose : Hochgradige Anämie, in schweren Fällen Ikterus und Hämoglobinurie.

Bei Mäusen und Ratten wurden diese Krankheitszeichen trotz hohen Parasitenbefalls nicht beobachtet. Bei der entmilzten Maus entwickelt sich im allgemeinen nach einer durchschnittlichen Präpatenzzeit von 12 Tagen eine Parasitämie von sinusähnlicher Verlaufsform (Abb. 1). In der nicht entmilzten Maus erreicht die Parasitämie nur sehr geringe Werte. Der phasenförmige Infektionsverlauf fehlt hierbei.

Hinsichtlich der Behandlung der *Babesia galagolata*-Infektion liegt nur ein einziger Hinweis vor. Hierbei wurde ein stark infizierter Galago mit Berenil und Imidocarb therapiert (DENNIG, 1973). Während Berenil keinen Einfluß auf die Parasitämie ausübte, führte Imidocarb zu einem schnellen Rückgang der Parasiten-

zahl.

Im Gegensatz hierzu liegen über die Behandlung der übrigen, auf Mäuse übertragbaren Babesienarten Arbeiten in größerer Zahl vor, obwohl auch hier vergleichende, systematische Untersuchungen noch ausstehen.

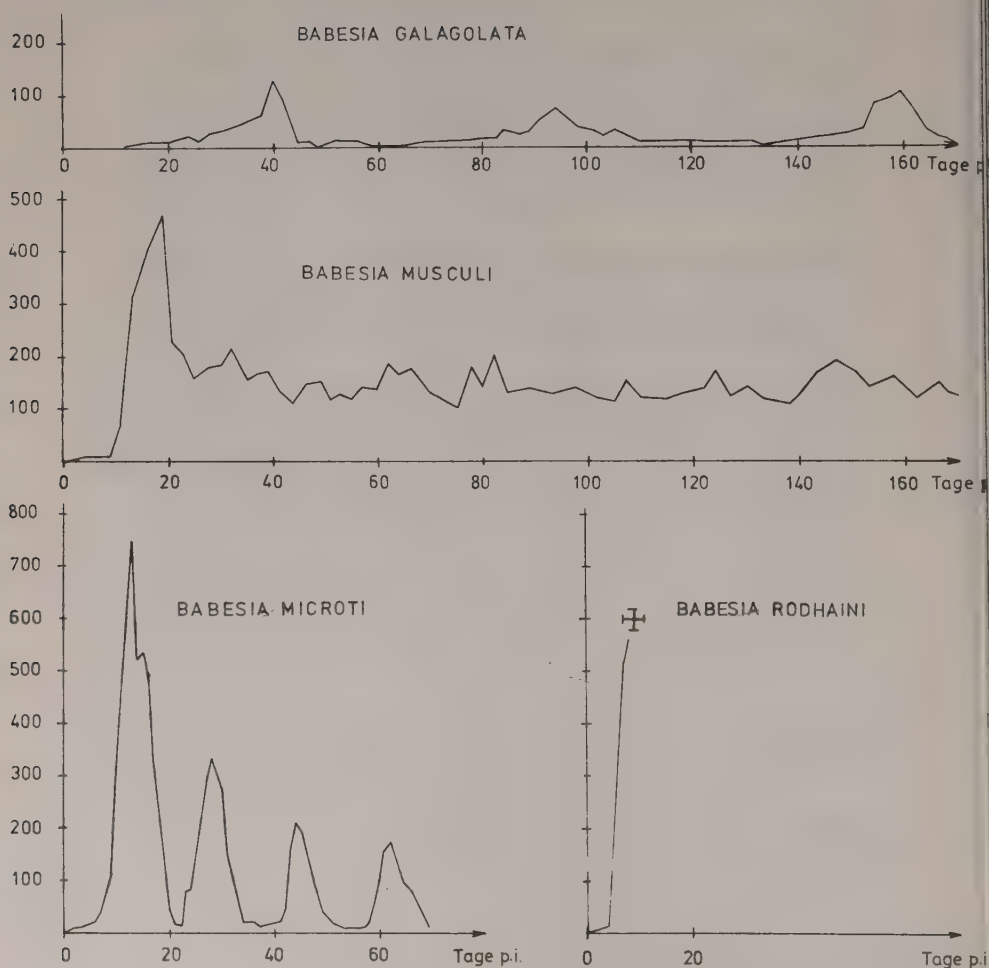
Der Verlauf der *Babesia rodhaini*-Infektion wurde von RODHAIN (1950), van den BERGHE u.M. (1950), BEVERIDGE (1953), COLAS - BELCOUR und VERVENT (1953), COX und YOUNG (1969) und NOWELL (1969) untersucht. Der Parasit führt bei entmilzten und nicht entmilzten Mäusen zu einer rasch ansteigenden und hohen Parasitämie (Abb. 1), wobei die Mortalität vom verwendeten Babesienstamm abhängig ist.

MURATOV (1966) und NAGEL (1973) befaßten sich eingehend mit *Babesia musculi* und ihrem Infektionsverlauf in der Maus (Abb. 1). Nach Angaben der Autoren ist die Parasitämie nur durch einen einzigen Pik gekennzeichnet, der nach einer allmählich ansteigenden Phase erreicht wird und bei nicht entmilzten Mäusen eine durchschnittliche Höhe von 320 ‰, bei entmilzten von 470 ‰ aufweist. Danach fällt die Parasitämie ab und pendelt sich auf ein Niveau ein, das über Monate hinweg bei einer durchschnittlichen Höhe von 150 ‰ bei splenektomierten und 15 ‰ bei nicht splenektomierten Mäusen liegt. Rückfälle, die mit einem signifikanten Anstieg der Parasitenzahl verbunden sind, scheinen nicht aufzutreten.

Der Infektionsverlauf von *Babesia microti* in der Maus wurde von SHORTT und BLACKIE (1965), COX und YOUNG (1969) und NOWELL (1969) näher untersucht. Diese Parasitenart führt im allgemeinen zu einem raschen und steilen Anstieg der Parasitämie auf 500 bis 600 ‰ (Abb. 1). Anschließend fällt

VERLAUF DER BABESIA GALAGOLATA-,
BABESIA MUSCULI-, BABESIA MICROTI-UND
BABESIA RODHAINI-INFEKTION IN DER MAUS.

Parasitämie in ‰



die Parasitenzahl schnell ab, um eventuell nach kurzer Zeit nochmals anzusteigen.

Literaturangaben über die Chemotherapie der Babesiose bei Nagetieren liegen nur in sehr beschränkter Zahl vor. Im allgemeinen handelt es sich bei diesen Arbeiten um Modellversuche zur Prüfung von Medikamenten im Hinblick auf die in wirtschaftlicher Hinsicht wichtigeren Haustierbabesiosen. Systematische und vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit der verschiedenen Präparate bei der Behandlung von Nagetierbabesiosen fehlen.

TAYLOR u. M. (1956) behandelten *Babesia rodhaini* infizierte Mäuse mit Berenil. Das Therapeutikum wurde in der von ihm festgestellten maximal tolerierten Menge von 200 mg/kg Kgw. verabreicht, die auf 4 aufeinanderfolgende Tage verteilt war. Die erste Verabreichung von Berenil erfolgte hierbei unmittelbar nach der Infektion der Tiere. Diese Behandlung bewahrte die Mäuse vor einer mikroskopisch erkennbaren Infektion. Es liegen keine Angaben darüber vor, ob Rückfälle auftraten oder eine Sterilisatio magna folgte.

RYLEY (1957) führte bei *Babesia rodhaini* infizierten Mäusen ebenfalls Versuche mit Berenil durch, jedoch in geringerer Dosierung als die oben genannten Autoren. Er verwendete insgesamt 37,5 mg/kg Kgw. Berenil, verabfolgt an 3 aufeinanderfolgenden Tagen. Das Medikament war in dieser Dosierung nur "mäßig wirksam" (engl.: moderate activity). Nähere Angaben über die Wirkung fehlen auch hier.

POWAROVA (1969) erzielte bei *Babesia rodhaini* infizierten Mäusen mit Berenil, verabreicht in der Dosierung von jeweils

120 mg/kg Kgw. an 2 aufeinanderfolgenden Tagen, eine Heilung der Versuchstiere. Auch hier fehlen nähere Angaben über die Wirkung des Medikamentes.

Das gleiche Präparat wurde von NAGEL (1973) bei *Babesia musculi* geprüft. Selbst nach der sehr hohen Dosierung von 173 mg/kg Kgw., verabfolgt an 4 aufeinanderfolgenden Tagen, traten – abgesehen von einem kurzfristigen Verschwinden der Parasiten aus dem peripheren Blut – immer wieder Rückfälle auf.

Für die Behandlung von Nagetierbabesiosen mit Diampron liegen nur 3 Hinweise vor.

LUCAS (1960) und POWAROVA (1969) erprobten das Präparat bei *Babesia rodhaini*-Infektionen in der Maus. Ihren Angaben entsprechend wurde mit einer Dosis von 5,8 bzw. 25 mg/kg Kgw. Diampron eine Heilung erzielt. Präzise Informationen über den Heileffekt, Sterilisatio magna oder Rückfälle fehlen auch bei diesen Autoren.

COX und YOUNG (1969) behandelten die *Babesia rodhaini*-Infektion der Maus ebenfalls mit Diampron, allerdings in wesentlich höherer Dosierung. Mit 40 mg/kg Kgw. führten die Autoren eine schnelle klinische Heilung der Tiere und eine Sterilisatio magna herbei.

COX und YOUNG konnten den gleichen Effekt nach der Behandlung der *Babesia microti*-Infektion der Maus mit Diampron beobachten.

Imidocarb wurde von SCHMIDT u. M. (1969) und BEVERIDGE (1969) bei der *Babesia rodhaini*-Infektion der Maus in der Dosierung von 5 bis 15 bzw. 30 mg/kg Kgw. getestet. Übereinstimmend stellten die Autoren eine schnelle Wirkung des Präparates fest. Angaben über eventuelle Rückfälle liegen nicht vor.

NAGEL (1973) prüfte das gleiche Medikament bei der *Babesia musculi*-Infektion. Trotz hoher Dosierung (insgesamt 132 mg/kg Kgw., auf 4 aufeinanderfolgende Tage verteilt) wurde nur eine vorübergehende Parasitenfreiheit erzielt. Danach traten regelmäßig Rückfälle auf.

Bei den genannten Präparaten handelt es sich um Verbindungen, die sich bei der Behandlung von Babesiosen durch einen breiten therapeutischen Effekt und gute Verträglichkeit auszeichnen. Alle 3 Medikamente gehören nach ihrer chemischen Struktur zur Gruppe der Diamidine.

Über die Verwendung von Berenil (Synonyma: Babesin, Ganaseg, Asidin, Diminazene) bei der Behandlung der Haustierbabesiosen liegt eine umfangreiche Literatur vor, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll. BAUER (1967) faßte in einem Sammelreferat die wichtigsten Arbeiten auf diesem Sektor zusammen und gab einen umfassenden Überblick über den Anwendungsbereich des Präparates.

Berenil wird demnach in einer Dosierung von 3,5 bis 5 mg/kg Kgw. verwendet, wobei das Mittel subkutan oder intramuskulär appliziert werden kann.

Eine Literaturzusammenstellung über Pirodiazol (Synonyma: Diampron, Amicarbalide) liegt von DENNIG (1972) vor.

Das Präparat weist gute Wirksamkeit bei Infektionen mit *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Babesia divergens*, *Babesia argentina*, *Babesia berbera*, *Babesia caballi* und *Babesia canis* auf.

Die therapeutische Dosis liegt zwischen 5 und 10 mg/kg Kgw. bei subkutaner oder intramuskulärer Verabreichung.

DENNIG (1972) gibt auch einen Überblick über den Anwendungsbereich von Imidocarb (Synonyma: Imizocarb, Imizol). Das Medikament zeigt bei subkutaner, intramuskulärer oder intravenöser Anwendung der therapeutischen Dosis von 0,5 bis 1 mg/kg Kgw. gute Wirksamkeit gegen *Babesia bigemina*, *Babesia divergens*, *Babesia argentina*, *Babesia caballi*, *Babesia equi* und *Babesia canis*.

Die wichtigsten Merkmale der 3 Verbindungen sind in der anschließenden Tabelle (Tab. 1) aufgeführt.

Tab. 1

Produktinformationen über Berenil^R, Pirodia^R und Imidocarb^R

Berenil			Pirodia	Imidocarb
Wirkstoff	4,4'-diamidino-diazoaminobenzol-diacetat	3,3'-diamidino-carbanilid-diisothionat	3,31 - imidazol in-2-yl-carbanilid-dihydrochlorid	
chemische Gruppe	Diamidin	Diamidin	Diamidin	Diamidin
Wirksamkeit	Babesienarten der Haustiere und der kleinen Nager.	Babesia bovis, Babesia bigemina, Babesia divergens, Babesia argentina, Babesia berbera, Babesia caballi, Babesia canis.	Babesia bigemina, Babesia divergens, Babesia argentina, Babesia caballi, Babesia equi, Babesia canis.	
Wirkungsmechanismus	Beeinflußt Feinbau und Struktur der Zytomembranen	Keine näheren Informationen	Keine näheren Informationen	Keine näheren Informationen
Verhalten im Organismus	Rasche Resorption; Ausscheidung über die Niere; nach 24 Std. ist der größte Teil des Medikamentes eliminiert.	Verbleib im Organismus; 3 - 4 Tage	Keine näheren Informationen	
Toxizität	DL ₅ (Maus) - 148 mg/kg Kgw. DL ₅₀ (Maus) - 258 mg/kg Kgw. bei s.c. Applikation	DL ₅₀ (Maus) - 120 mg/kg Kgw. bei s.c. Applikation 10 - 20 mg/kg Kgw. (Rind): subcutane Oedeme s.c., i.m.	Intoxikationen ab 10 mg/kg Kgw. (Rind)	
Applikationsart	s.c., i.m.	s.c., i.m.	s.c., i.m., i.v.	
Therapeutische Dosis	3,5 - 5 mg/kg Kgw.	5 - 10 mg/kg Kgw.	0,5 - 1 mg/kg Kgw.	

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methoden

Bei *Babesia galagolata* handelt es sich um den originalen Stamm, der im Institut isoliert wurde und seither auf splenektomierten Galagos, Rhesusaffen und Mäusen gehalten wird. *Babesia musculi* und *Babesia rodhaini* sind ebenfalls Institutsstämme, die auf Mäusen gehalten werden.

Die Versuche wurden an weiblichen Mäusen (NMRI-Zucht, Ivanovas, Kisslegg/Allgäu) durchgeführt. Alter: ca. 6 Wochen; Gewicht: ca. 30 g. Während der Versuche wurden die Mäuse bei einer Raumtemperatur von 22°C und einer Luftfeuchtigkeit von 40 bis 50 % gehalten.

Als Futter wurde "Sniff" (Intermast, Soest) und Wasser ad libitum gereicht.

Eine Woche vor Versuchsbeginn wurden die Mäuse entmilzt. Die Narkose wurde mit Nembutal^R (30 mg/kg Kgw.) durchgeführt.

Die Blutentnahme für Ausstriche erfolgte bei Mäusen durch Kupieren der Schwanzspitze. Die Entnahme größerer infektiöser Blutmengen für die Inokulation wurde beim Galago aus der Ohrvene, beim Rhesusaffen aus der Vena saphena magna und bei Mäusen aus dem retroorbitalen Venenplexus (NÖLLER; 1955) entnommen. Als Antikoagulans wurde Vetren^R verwendet.

Die Blutausstriche wurden nach der üblichen Methode mit Giemsa-Lösung gefärbt.

Die Bestimmung der Höhe des Parasitenbefalls erfolgte, indem die Erythrozytenzahl des Spendertieres mit der Thoma-Zählkammer und die Zahl der mit Babesien befallenen roten Blutkörperchen pro 1000 Erythrozyten im gefärbten Blutaussstrich ermittelt wurden. Ausschlaggebend war hierbei der infizierte Erythrozyt, während die Zahl der Parasiten im roten Blutkörperchen keine Berücksichtigung fand. (Beispiel: Eine Parasitämie von 200 % bedeutet, daß 200 von 1000 Erythrozyten mit Babesien befallen sind, wobei diese Zahl jedoch nichts über die absolute Parasitenzahl aussagt). Für die Versuche stellte ich jeweils durch Verdünnung des Blutes mit physiologischer Kochsalzlösung einen bestimmten Parasitengehalt ein.

Bei Versuchen mit *Babesia galagolata* kamen Inokula von 5×10^7 bis $2,5 \times 10^8$ infizierter Erythrozyten pro Maus zur Verwendung, während bei Versuchen mit *Babesia musculi* und *Babesia rodhaini* nicht quantitativ gearbeitet wurde.

Das Chemotherapeutikum Berenil kam unter Berücksichtigung der wirksamen Substanz zur Anwendung.

B. Ergebnisse

1. Vorversuch zur Einstellung der Parasitendichte im Inokulum

Die Versuche zur Prüfung der Medikamente sollten an Mäusen mit einem möglichst hohen Parasitenbefall erfolgen. Um reproduzierbare Ergebnisse hinsichtlich der Höhe der Parasitämie zu erhalten, wurde im Vorversuch die Abhängigkeit der Höhe des Parasitenbefalls von der übertragenen Parasitenmenge geprüft. Die Untersuchung wurde mit Hilfe abgestufter Inokula durchgeführt, die von 10^1 bis $7,5 \times 10^8$ infizierter Erythrozyten pro Maus reichten. Hierbei wurden die verschiedenen Inokula auf jeweils 2 entmilzte und 2 nicht entmilzte Mäuse übertragen.

In der folgenden Tabelle (Tab. 2) sind Präpatenzzeit, Zeitpunkt der höchsten Parasitämie und Befallshöhe bei den entmilzten und nicht entmilzten Mäusen nach Übertragung der unterschiedlichen Parasitenmengen aufgeführt.

Das Resultat dieser Untersuchung zeigt, daß Inokula zwischen 5×10^7 und $2,5 \times 10^8$ infizierter roter Blutkörperchen bei kurzer Präpatenzzeit zu relativ hoher Parasitämie führen. Die Höhe der Parasitämie unterschied sich dabei nur unwesentlich von derjenigen, die nach Übertragung größerer Inokula auftrat. Die Übertragung von weniger als 5×10^7 infizierter Erythrozyten verursachte eine schwächere Parasitämie und eine verlängerte Präpatenzzeit.

Für die chemotherapeutischen Versuche wurden deshalb Inokula in der Größenordnung von 5×10^7 bis $2,5 \times 10^8$ infizierter Erythrozyten gewählt, weil sie in dieser Höhe die günstigsten Voraussetzungen für eine ausreichende Parasitämie boten.

Entmilzte Mäuse

Infektionsdosis
(infizierte Erythrozyten)

750 Mio	0	0	0	0	11	15	13	70	130	100
500 "	0	0	0	0	13	13	13	35	300	167
250 "	1	1	1	1	21	21	21	80	100	90
100 "	1	1	1	1	31	34	32	122	136	128
50 "	1	1	1	1	27	34	30	30	146	88
10 "	7	11	9	9	25	37	31	35	150	92
1 "	16	18	17	17	44	44	44	44	100	72
10 ⁵	28	35	31	31	56	56	56	80	126	103
50 000	39	44	41	41	58	60	59	30	130	80
10 ⁴	50	52	51	51	60	77	68	20	45	32
5000	50	63	56	56	67	91	79	15	35	25
10 ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ²	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Nicht entmilzte Mäuse

Infektionsdosis

750 Mio	0	0	0	0	9	11	10	28	62	45
500 "	0	0	0	0	9	9	9	36	56	46
250 "	1	1	1	1	-	15	7	<1	20	10
100 "	1	1	1	1	-	17	8	<1	20	10
50 "	1	1	1	1	-	17	8	<1	18	9
10 "	14	16	15	15	-	-	-	<1	<1	<1
1 "	14	16	15	15	-	-	-	<1	<1	<1
10 ⁵	23	23	23	23	-	-	-	<1	<1	<1
50 000	30	-	30	30	-	-	-	<1	<1	<1
10 ⁴	44	50	47	47	-	-	-	<1	<1	<1
5000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ²	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Anmerkung:

D = Durchschnittswert

PZ = Präpatenzzeit (Tage p.i.)

ZP = Zeitpunkt der höchsten Parasitämie (Tage p.i.)

MP = Maximum der Parasitämie (‰)

2. Vorversuch zur Prüfung der Verträglichkeit von Berenil

und Pirodia

Der Vorversuch wurde jeweils an einem Kollektiv von 10 nicht entmilzten und nicht infizierten Mäusen vorgenommen.

Der Versuch ergab, daß Berenil in Dosierungen bis zu 200 mg/kg Kgw. ohne sichtbare Nebenerscheinungen vertragen wurde. Bei 300 mg/kg Kgw. zeigten die Versuchstiere eine starke Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens (pumpende Atmung, Zittern, gesträubtes Fell, Apathie), und bei 500 mg/kg Kgw. verendeten die Mäuse.

Pirodia rief in der Dosierung von 150 mg/kg Kgw. ähnliche Symptome (siehe oben) hervor. Bei 200 mg/kg Kgw. verendeten die Tiere.

Eine hochgradige Babesieninfektion führt zweifellos zu einer Schwächung der allgemeinen Widerstandskraft des Wirtstieres. Daraus dürfte eine verminderte Verträglichkeit der Pharmaka resultieren. Deshalb wurden die Präparate - um Ausfälle zu vermeiden - in geringerer als in der von gesunden Mäusen maximal tolerierten Menge verabreicht: Berenil: 150 mg/kg Kgw. und Pirodia: 100 mg/kg Kgw.

Für Imidocarb wurde als maximale Toleranzdosis die von NAGEL (1973) ermittelte Menge von 33 mg/kg Kgw. angewandt.

3. Chemotherapie der *Babesia galagolata*-Infektion mit

Berenil, Pirodia und Imidocarb

Berenil

6 Gruppen von jeweils 5 Mäusen wurden einmalig mit Berenil in den Dosierungen von 10, 20, 30, 40, 50 und 150 mg/kg Kgw. behandelt. Zum Zeitpunkt der Therapie lag der durchschnittliche Parasitenbefall bei 75 ‰.

Hierbei zeigte sich, daß Berenil bei keiner Gruppe eine Verringerung der Parasitenzahl zur Folge hatte. Bei allen Mäusen blieb die Parasitämie weiter bestehen (Abb. 3).

5 Tiere wurden bei einem durchschnittlichen Befall von 60 ‰ zweimal mit der Dosis von 150 mg/kg Kgw. Berenil behandelt. Die Therapie erfolgte im Abstand von 2 Tagen.

Während die Parasitenzahl sich nach der ersten Behandlung nicht verringerte, nahm sie vom 2. Tag nach der 2. Therapie kontinuierlich ab. Vom 9. bis zum 36. Tag war das Blut parasitenfrei. Danach traten erneut Babesien auf (Abb. 3).

5 Mäuse mit einem durchschnittlichen Parasitenbefall von 126 ‰ wurden am 29., 31. und 33. Tag p.i. jeweils mit 150 mg/kg Kgw. Berenil therapiert.

2 Tage nach der ersten Behandlung war nur ein geringer Rückgang der Parasitenzahl zu verzeichnen. Nach der zweiten Therapie hatte sich die Befallshöhe um die Hälfte verringert, und nach der 3. Behandlung verminderte sich der Befall kontinuierlich. Vom 7. bis zum 81. Tag konnten bei keiner Maus Babesien festgestellt werden.

Anschließend wurden bei allen 5 Mäusen erneut Parasiten beobachtet (Abb. 3).

Pirodia

5 Gruppen mit einem durchschnittlichen Befall von 85 ‰ wurden einmalig mit 5, 10, 20, 50 und 100 mg/kg Kgw. behandelt.

Bei keiner der Versuchstiergruppen bewirkte die Therapie eine Verringerung der Parasitenzahl (Abb. 4).

5 Mäuse mit einem durchschnittlichen Befall von 110 ‰ wurden am 24., 26. und 28. Tag p.i. mit jeweils 100 mg/kg Kgw. Pirodia therapiert.

Die Behandlung zeigte keine deutliche Wirkung auf die Parasitämie. Die Babesienzahl verringerte sich zwar vorübergehend geringgradig, stieg jedoch wenig später erneut an (Abb. 4).

Imidocarb

Eine Mäusegruppe mit einem Parasitenbefall von 80 ‰ wurde am 13. Tag p.i. mit 10 mg/kg Kgw. Imidocarb behandelt.

Bereits einen Tag nach der Therapie konnte ein deutlicher Rückgang der Parasitenzahl festgestellt werden. Die Befallshöhe verringerte sich kontinuierlich. Vom 8. bis zum 29. Tag nach der Behandlung war das Blut der Versuchstiere parasitenfrei. Danach konnten bei allen Mäusen Babesien erneut mikroskopisch nachgewiesen werden (Abb. 5).

Eine weitere Gruppe mit einer Befallshöhe von 80 %o wurde am 10. Tag p.i. mit 20 mg/kg Kgw. behandelt. Die Parasitenzahl verringerte sich nach der Therapie stetig. Vom 12. bis zum 68. Tag nach der Behandlung war das Blut frei von Babesien. Anschließend wurden bei allen Mäusen wieder Parasiten festgestellt (Abb. 5).

Die Prüfung der Wirksamkeit von Imidocarb in der maximalen Toleranzdosis von 33 mg/kg Kgw. wurde an 3 Gruppen von jeweils 5 Mäusen vorgenommen. Zur Feststellung einer möglicherweise unterschiedlichen Wirkung des Medikamentes auf verschieden starke Parasitämien wurde Imidocarb bei der ersten Gruppe bei schwachem Befall (3 %o), bei der zweiten bei mittelgradigem Befall (77 %o) und bei der dritten auf dem Höhepunkt der Parasitämie (150 %o) verabreicht.

Während bei der ersten Gruppe (schwacher Parasitenbefall) (Abb. 5) die Parasiten bereits 5 Tage nach der Therapie aus dem peripheren Blut verschwunden waren, dauerte es bei den beiden anderen Mäusegruppen 7 Tage. Anschließend konnten bis zum 51. Tag nach der Behandlung bei keiner Gruppe Parasiten beobachtet werden.

Zum Nachweis einer eventuell bestehenden latenten Infektion wurden am 33. Tag nach der Therapie Rückübertragungsversuche auf entmilzte Mäuse vorgenommen. In keinem Fall konnte eine Infektion nachgewiesen werden.

In der gleichen Dosierung wurden 5 nicht entmilzte Mäuse bei einer Befallshöhe von 1 %o behandelt. Nach 3 bis 7 Tagen war das periphere Blut mikroskopisch frei von Parasiten. Bis zum Ende einer 43-tägigen Beobachtungszeit konnten keine Babesien mehr nachgewiesen werden.

Zum Nachweis einer eventuell bestehenden latenten Infektion wurden die Mäuse entmilzt. Die Splenektomie bewirkt bei latent infizierten Tieren eine starke Vermehrung der Parasiten, so daß sie mikroskopisch ohne Schwierigkeiten nachgewiesen werden können.

Die Splenektomie der Mäuse wurde am 43. Tag nach der Behandlung vorgenommen. Während bei 2 Tieren 18 bzw. 32 Tage p. spl. eine deutliche Parasitenvermehrung eintrat, blieb das Blut der übrigen Versuchstiere bis zu einer Dauer von 55 Tagen p. spl. parasitenfrei. Danach wurde die Beobachtung abgebrochen.

4. Chemoprophylaxe der Babesia galagolata-Infektion mit Imidocarb

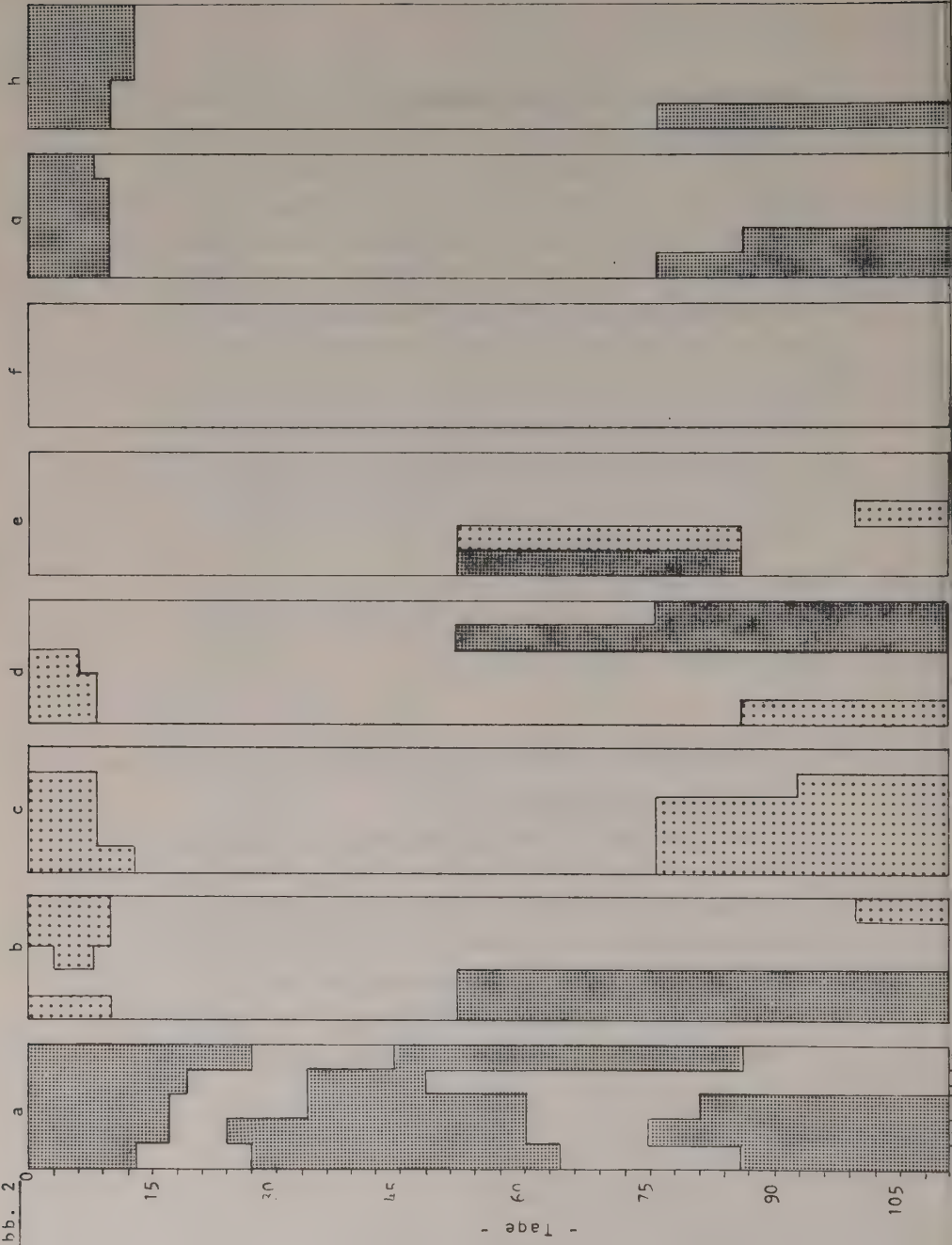
Entsprechend meiner Versuchsergebnisse war Imidocarb die einzige Verbindung, die sowohl in geringer als auch in hoher Dosierung bei der Babesia galagolata-Infektion der Maus eine Wirkung zeigte. Deshalb sollte das Präparat auch auf eine eventuell bestehende chemoprophylaktische Wirkung untersucht werden.

7 Gruppen von jeweils 5 Mäusen wurden 20, 15, 10, 5 Tage vor der Infektion, sowie gleichzeitig mit der Infektion (4 Stunden vor der Übertragung der Parasiten) und 5 und 10 Tage nach der Infektion mit 33 mg/kg Kgw. Imidocarb behandelt.

Detaillierte Angaben über diesen Versuch liegen in der folgenden Abbildung (Abb. 2) vor.

Anmerkung zur folgenden Abbildung (Abb. 2):

- a = unbehandelte Kontrollgruppe
- b = Chemoprophylaxe 20 Tage vor Übertragung der Parasiten
- c = Chemoprophylaxe 15 Tage vor Übertragung der Parasiten
- d = Chemoprophylaxe 10 Tage vor Übertragung der Parasiten
- e = Chemoprophylaxe 5 Tage vor Übertragung der Parasiten
- f = Behandlung gleichzeitig mit Übertragung der Parasiten
- g = Behandlung 5 Tage nach Übertragung der Parasiten
- h = Behandlung 10 Tage nach Übertragung der Parasiten



.....
schwacher
Parasiten-
befall

.....
mittlerer
bis
starker
Parasiten-
befall

5. Wirksamkeitskontrolle von Berenil, Pirodia und Imidocarb

bei der *Babesia rodhaini*- und der *Babesia musculi*-Infektion.

Zur Wirkungsprüfung der Therapeutika wurden Versuchstiergruppen von jeweils 5 Mäusen mit *Babesia rodhaini* und *Babesia musculi* infiziert. Die Übertragung von *Babesia rodhaini* erfolgte auf nicht entmilzte Tiere, da wegen der hohen Virulenz des Erregers und der im allgemeinen beobachteten hohen Parasitenzahl auf eine Splenektomie der Tiere verzichtet werden konnte. Die Versuche mit *Babesia musculi* wurden dagegen an entmilzten Mäusen vorgenommen, da auf diese Weise eine höhere Parasitenzahl als in nicht entmilzten Mäusen erreicht wird. Dabei sollte bei den nicht entmilzten Tieren die Splenektomie zum Nachweis einer eventuell nach der Behandlung aufgetretenen latenten Infektion herangezogen werden. Bei entmilzten Mäusen sollte dagegen der entsprechende Nachweis durch Rückübertragung auf entmilzte, nicht infizierte Tiere erfolgen.

Die Behandlung mit den verschiedenen Präparaten fand in der ansteigenden Phase der Parasitämie mit der jeweils im Vorversuch ermittelten Höchstdosis (Berenil: 150 mg/kg Kgw.; Pirodia: 100 mg/kg Kgw.; Imidocarb: 33 mg/kg Kgw.) statt.

Berenil

Eine mit *Babesia rodhaini* infizierte Versuchstiergruppe wurde bei einer durchschnittlichen Befallshöhe von 370 %o am 8. Tag p.i. mit Berenil behandelt. 2 Mäuse starben bereits einen Tag nach der Therapie, ohne daß das Blut nochmals kontrolliert wurde. Die 3 weiteren Tiere verendeten am 5. Tag nach der Behandlung bei abnehmender Parasitämie (Abb. 3).

Eine weitere Gruppe wurde am 4., 6. und 8. Tag p.i. bei einer durchschnittlichen Parasitämie von 120 %o jeweils mit der Höchstdosis von Berenil therapiert.

Während sich die Parasitenzahl nach der ersten Behandlung nicht verringerte, war nach der zweiten ein deutlicher Abfall zu verzeichnen. Nach der letzten Verabreichung des Medikamentes war das Blut der Versuchstiere parasitenfrei. Bis zum 58. Tag nach der Behandlung konnten bei 4 Mäusen keine Babesien nachgewiesen werden. Nur bei einem Tier traten am 20. Tag nach der letzten Behandlung wieder Parasiten auf. 64 Tage p.i. wurden die 4 parasitenfreien Mäuse entmilzt. Bis zum Ende der Beobachtungszeit von 80 Tagen wurden mikroskopisch keine Parasiten festgestellt (Abb.3).

Am 7. Tag p.i. wurde eine Versuchstiergruppe, die mit Babesia musculi infiziert war, bei einer durchschnittlichen Befallshöhe von 130 %o mit Berenil therapiert.

Bis zum 2. Tag nach der Behandlung veränderte sich die Höhe des Parasitenbefalls nicht. Danach verringerte sich die Babesienzahl kontinuierlich. Vom 9. bis zum 16. Tag nach der Therapie konnten bei keinem Versuchstier Parasiten im peripheren Blut nachgewiesen werden. Anschließend traten erneut bei allen Mäusen Babesien auf (Abb.3).

Eine weitere Gruppe wurde am 13., 15. und 17. Tag p.i. bei einem durchschnittlichen Befall von 130 %o jeweils mit der Höchstdosis von Berenil behandelt.

Während sich die Parasiten nach der ersten Therapie noch weiter vermehrten, konnte 2 Tage nach der zweiten Behandlung ein deutliches Absinken der Parasitenzahl festgestellt werden.

Auch nach der dritten Therapie verringerte sich die Befallshöhe fortlaufend. 5 Tage nach der letzten Verabreichung des Medikamentes waren keine Babesien mehr nachweisbar.

Bei zwei Mäusen traten 24 bzw. 94 Tage nach der dritten Behandlung erneut Parasiten auf. Das Blut der drei restlichen Versuchstiere war für den gesamten Beobachtungszeitraum von 140 Tagen parasitenfrei. Ein anschließender Rückübertragungsversuch mit dem Blut der parasitenfreien Mäuse verlief negativ (Abb.3).

Pirodia

Babesia rodhaini infizierte Mäuse mit einem durchschnittlichen Parasitenbefall von 680 ‰ wurden am 6. Tag p.i. mit 100 mg/kg Kgw. Pirodia therapiert.

Einen Tag nach Verabreichung des Medikamentes war schon ein starker Rückgang der Parasitenzahl zu erkennen. Nach weiteren zwei Tagen konnten mikroskopisch keine Babesien mehr beobachtet werden. Vom 15. bis 36. Tag p.i. wurden bei 3 Tieren vereinzelte Parasiten nachgewiesen. Im Anschluß daran traten bis zum Ende der Beobachtungszeit von 140 Tagen keine Babesien auf. Das Blut der beiden restlichen Mäuse war vom 3. bis 140. Tag nach der Behandlung parasitenfrei. Anschließend wurden die Versuchstiere splenektomiert. In keinem Fall konnten in der folgenden Kontrollzeit von 60 Tagen Babesien festgestellt werden (Abb.4).

Eine weitere, ebenfalls mit *Babesia rodhaini* infizierte Gruppe wurde am 5., 7. und 9. Tag p.i. bei einem durchschnittlichen Befall von 240 ‰ mit der Höchstdosis von jeweils 100 mg/kg Kgw. Pirodia behandelt.

Zwei Tage nach erster Verabreichung des Medikamentes war eine deutliche Abnahme der Parasitenzahl zu beobachten: Zum Zeitpunkt der 2. Therapie konnten nur noch wenige Babesien festgestellt werden. Bei der 3. Behandlung waren mikroskopisch keine Parasiten mehr nachweisbar.

In der folgenden Kontrollzeit von 80 Tagen traten keine Babesien auf.

Am 81. Tag nach der letzten Verabreichung des Präparates wurden die Mäuse splenektomiert. In einem weiteren Zeitraum von 70 Tagen konnten keine Parasiten beobachtet werden (Abb. 4).

Mäuse mit einer Babesia muscui-Infektion wurden am 22. Tag p.i. bei einem durchschnittlichen Parasitenbefall von 440 ‰ mit Pirodia therapiert.

Während sich die Parasiten einen Tag nach Verabreichung des Medikamentes noch weiter vermehrt hatten, setzte am 2. Tag eine Verringerung der Parasitenzahl ein. Am 4. Tag waren nur noch vereinzelt Babesien nachweisbar. Vom 8. bis 12. Tag nach der Therapie konnten im Blut von keinem der Versuchstiere Parasiten festgestellt werden. Anschließend setzte wiederum eine deutliche Parasitenvermehrung ein. 2 Mäuse verendeten am 22. Tag (Abb. 4).

Eine weitere Mäusegruppe wurde am 13., 15. und 17. Tag p.i. bei einer durchschnittlichen Befallshöhe von 70 ‰ jeweils mit 100 mg/kg Kgw. Pirodia therapiert.

2 Tage nach der ersten Behandlung verringerte sich die Parasitenzahl deutlich. Während das Blut von 2 Tieren 2 Tage nach

der 2. Behandlung parasitenfrei war, konnten bei den 3 verbleibenden Mäusen noch bis zum 1. Tag nach der letzten Therapie vereinzelt Babesien beobachtet werden. Im Anschluß daran folgte eine parasitenfreie Phase. Bei einem Versuchstier traten nach 24 Tagen, bei einem weiteren nach 58 Tagen Babesien auf. Das Blut der 3 restlichen Mäuse blieb für die gesamte Kontrollzeit von 140 Tagen parasitenfrei. Rückübertragungsversuche mit dem Blut der parasitenfreien Mäuse bewiesen, daß diese Tiere latent infiziert waren (Abb.4).

Imidocarb

Die Behandlung der mit Babesia rodhaini infizierten Mäuse fand am 6. Tag p.i. bei einem durchschnittlichen Befall von 600 ‰ mit 33 mg/kg Kgw. Imidocarb statt.

Im Anschluß an die Therapierung verringerte sich die Parasitenzahl kontinuierlich. 3 Tage später waren bei keinem Versuchstier Babesien nachweisbar. In der Zeit vom 17. bis 71. Tag nach der Verabreichung des Präparates konnten bei 2 Mäusen Parasiten festgestellt werden. Das Blut der 3 restlichen Tiere blieb bis zum Ende der Beobachtungszeit von 140 Tagen parasitenfrei (Abb.5).

Im Anschluß daran wurden alle 5 Mäuse entmilzt. Bei einem der beiden Tiere, die nach der Behandlung einen Parasitenrückfall gezeigt hatten, kam es erneut zu einer starken Parasitenvermehrung. Bei den übrigen 4 Mäusen wurden keine Babesien mehr festgestellt.

Am 4., 6. und 8. Tag p.i. wurde eine weitere Mäusegruppe bei einer durchschnittlichen Befallshöhe von 265 ‰ jeweils mit 33 mg/kg Kgw. Imidocarb therapiert.

2 Tage nach der ersten Behandlung nahm die Parasitenzahl deutlich ab. Nach der 2. Therapie waren bei keinem Versuchstier Babesien nachweisbar. Das Blut der Mäuse blieb bis zum 80. Tag nach der letzten Verabreichung des Medikamentes parasitenfrei (Abb. 5).

Am 80. Tag wurden die Tiere entmilzt. In der folgenden Kontrollzeit von 60 Tagen konnten in keinem Fall Babesien beobachtet werden.

Bei einem durchschnittlichen Parasitenbefall von 145 ‰ wurden Mäuse, die mit *Babesia musculi* infiziert waren, mit 33 mg/kg Kgw. Imidocarb therapiert.

Das Präparat bewirkte trotz Verabreichung der Höchstdosis keine Verringerung der Parasitenzahl (Abb. 5).

Weitere Tiere wurden am 13., 15. und 17. Tag p.i. bei einem durchschnittlichen Befall von 100 ‰ jeweils mit 33 mg/kg Kgw. Imidocarb therapiert.

Während 2 Tage nach der ersten Behandlung ein deutlicher Anstieg der Parasitämie zu erkennen war, verringerte sich die Parasitenzahl vom 2. Tag nach der zweiten Verabreichung des Medikamentes bis zum 5. Tag nach der letzten Therapie kontinuierlich. Anschließend war das Blut bis zum 8. Tag bei allen Mäusen parasitenfrei. Danach wurden erneut Babesien beobachtet (Abb. 5).

Abb. 3 Chemotherapie der Babesia rodhaini¹, B. musculi¹ und der B. gallowata-Infektion in 1- bis 3-facher Dosierung von jeweils 150 mg/kg Kgw. Berenil

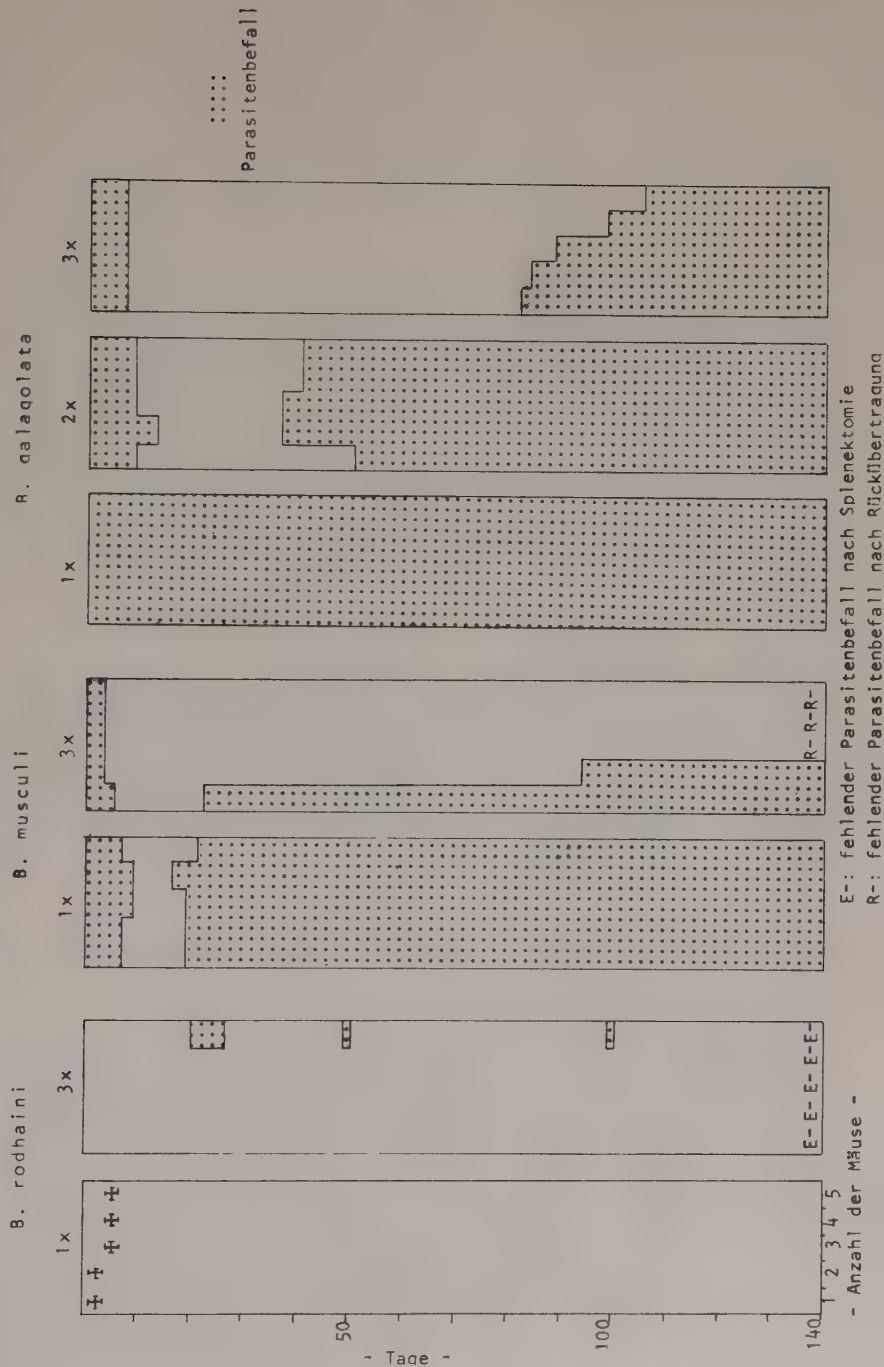
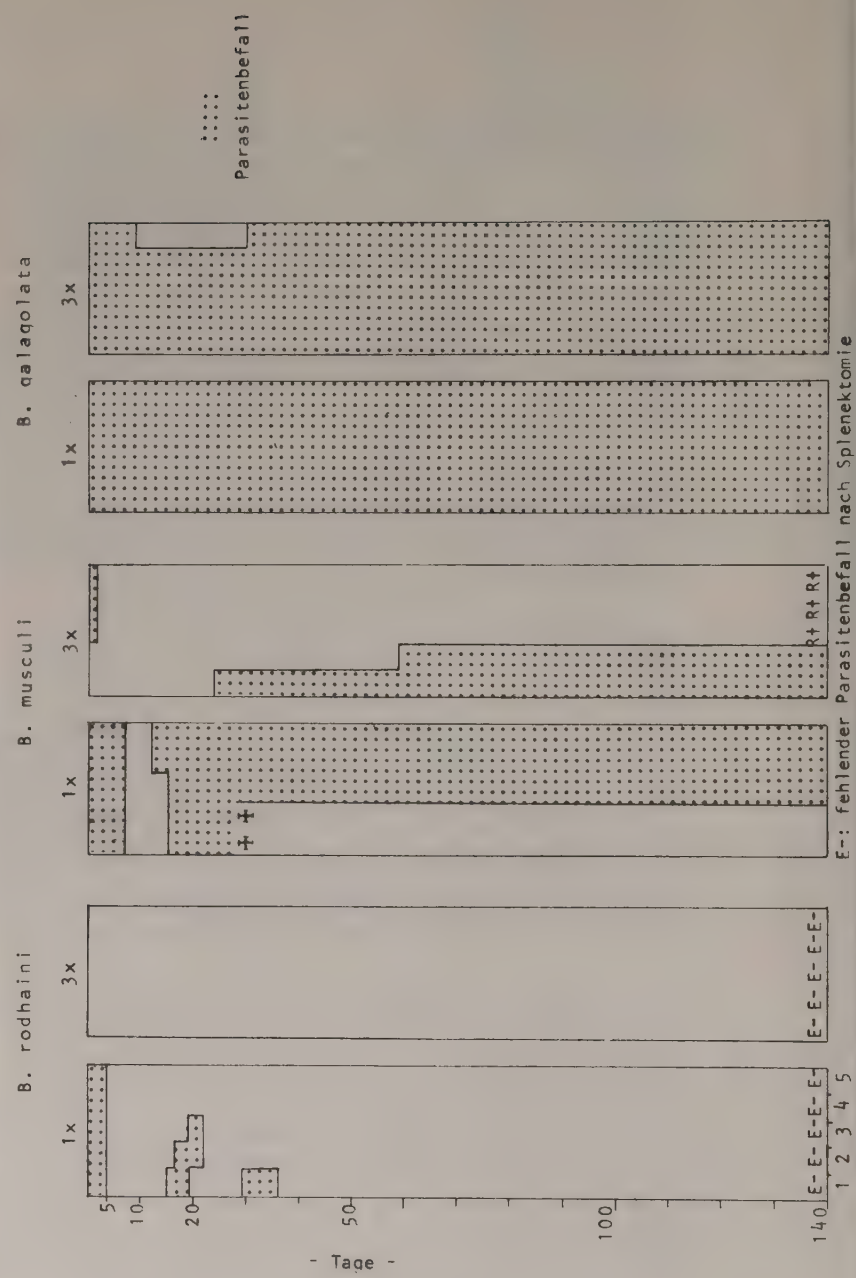
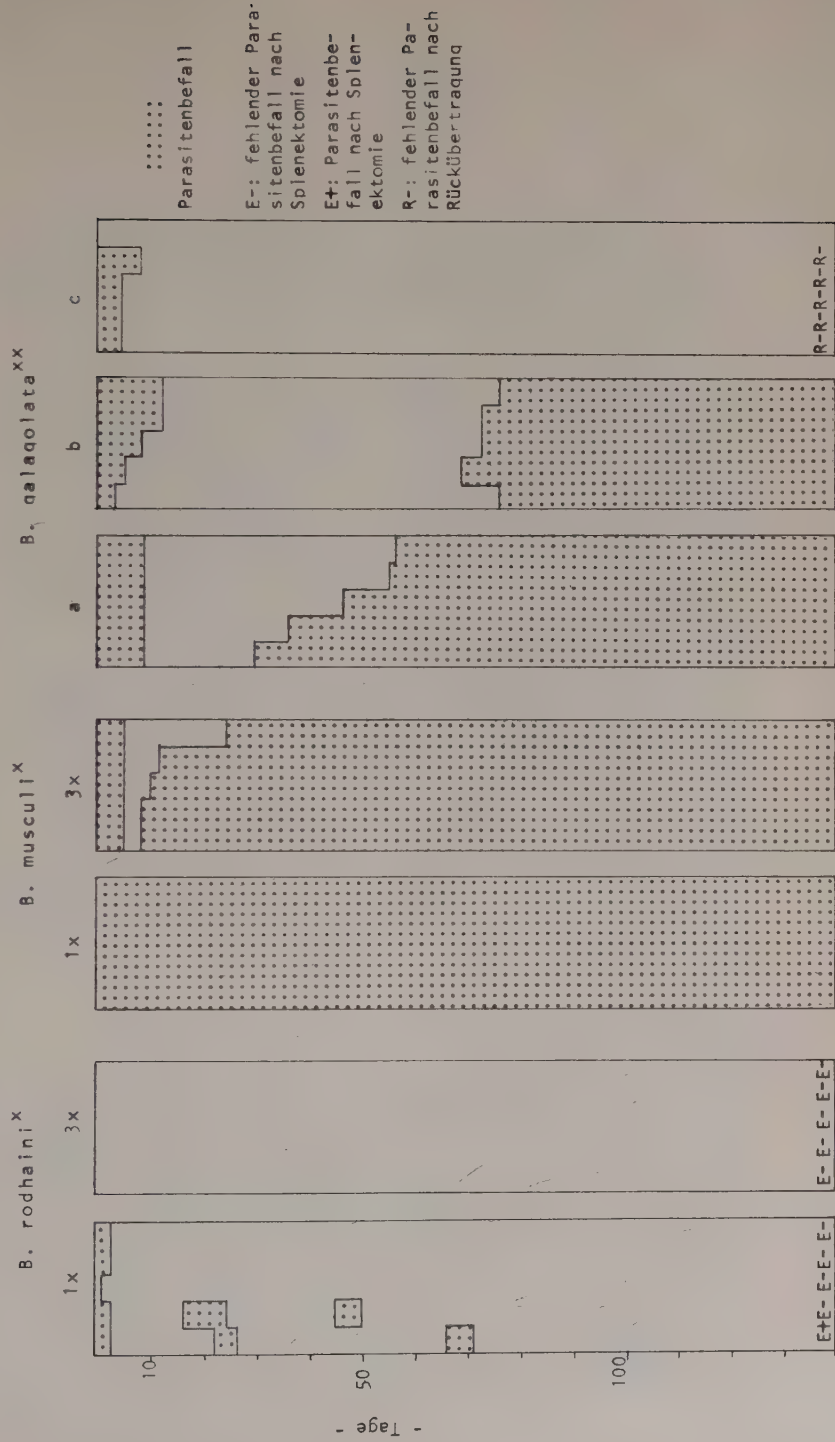


Abb. 4

Chemotherapie der Babesia rodhaini-, B. musculli- und der B. gallowata-Infektion
in 1- und 3-maliger Dosierung von jeweils 100 mg/kg Kgw. Pirodia



Chemotherapie der Babesia rodhaini-, B. muscili- und der B. gataolata-Infektion mit unterschiedlicher Dosierung von Imidocarb



x: 1- bzw. 3-fache Dosierung von 33mg/kg Kgw. Imidocarb

- Anzahl der Mäuse -

xx: a: 10 mg/kg Kgw. Imidocarb; b: 20mg/kg Kgw. Imidocarb; c: 33 mg/kg Kgw. Imidocarb;

IV. Besprechung der Ergebnisse

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Chemoresistenz von *Babesia galagolata* gegenüber Berenil, Piroda und Imidacarb. Um Medikamente, deren Wirksamkeit möglicherweise nachgelassen hatte, auszuschließen, wurden Benadolin-Kontrollen an der *Babesia rohmnyi*- und der *Babesia muscivora*-Infektion durchgeführt. Während die *Babesia galagolata*-Infektion in unterschiedlicher Dosierung behandelt wurde, kamen bei den Kontrollversuchen die Therapeutika nur in einmaligen bzw. dreimaligen aufeinanderfolgenden Verabreichung der maximal tolerierten Dosis zur Anwendung. Es wurde davon ausgegangen, daß die fehlende bzw. bestehende Wirksamkeit eines Präparates mit Sicherheit in einer dieser Dosierungen erfaßt werden konnte. Die Kontrollversuche boten zusätzlich die Möglichkeit, die Wirkung der Mittel auf die drei verschiedenen Babesienarten unter gleichbleibenden Bedingungen zu prüfen und miteinander zu vergleichen.

Chemotherapie mit Berenil

Bei der *Babesia galagolata*-Infektion wurde Berenil in den Dosierungen von 150, 300 und 450 mg/kg Kgw. verwendet. Hierbei konnte mit 150 mg/kg Kgw. keine Wirkung auf die Parasitämie erzielt werden. Der Behandlung mit 300 mg/kg Kgw. schloß sich eine ca. 1-monatige Parasiterfreiheit an, der parasitäre Rückfälle folgten. Die Verabreichung der höchsten Dosis (450 mg/kg Kgw.) führte zwar mit 2 1/2 Monaten zu einer noch erheblich längeren parasiterfreien Phase; parasitäre Rückfälle traten jedoch auch in diesem Falle wieder auf.

Aufgrund dieser begrenzten Wirksamkeit von Berenil wurde auf die Untersuchung der prophylaktischen Wirkung des Medikamentes verzichtet, ebenso wie auf die Behandlung nicht entmilzter Mäuse.

Die Kontrollversuche mit Babesia rodhaini zeigten, daß bei hoher Parasitämie mit Berenil in der Dosierung von 150 mg/kg Kgw. keine Heilung erzielt werden kann. In der Dosierung von 450 mg/kg Kgw. führte das Präparat jedoch zu einem schnellen Rückgang der Parasitenzahl und bei der Mehrzahl der Tiere zu einer Sterilisatio magna.

Im Gegensatz hierzu bewirkte das Chemotherapeutikum in der Dosierung von 150 mg/kg Kgw. bei der Babesia muscoli-Infektion auch bei hohem Parasitenbefall eine kontinuierliche Reduzierung der Befallshöhe mit anschließender Parasitenfreiheit der Tiere. Allerdings traten auch hier nach kurzer Zeit parasitäre Rückfälle auf. Bei Verabreichung der höchsten Dosis (3×150 mg/kg) kam es dagegen nur bei einem Teil der Versuchstiere zu Rezidiven, die jedoch erst nach langer Zeit auftraten. Bei den übrigen Mäusen bildete sich dagegen eine Sterilisatio magna aus.

Nach dem Ergebnis meiner Untersuchungen hatte demnach Berenil bei der Babesia galagolata-Infektion die geringste Wirkung, da parasitäre Rückfälle mit keiner Dosierung verhindert werden konnten. In stärkerem Maße wirkte das Mittel bei der Babesia muscoli-Infektion. Hierbei wurden bei einem Teil der Tiere eine Sterilisatio magna erzielt, bei dem anderen Teil parasitäre Rückfälle nicht verhindert. Die stärkste Wirkung

hatte Berenil bei der *Babesia rodhaini*-Infektion, bei der nach höchster Dosierung bei der überwiegenden Zahl der Mäuse eine *Sterilisatio magna* erreicht wurde.

In den vorliegenden Versuchen wurde die Prüfung auf eine eventuell bestehende latente Infektion bzw. eine *Sterilisatio magna* durch die Entmilzung der Tiere oder, wenn es sich schon um splenektomierte Mäuse handelte, durch Rückübertragung von Blut auf entmilzte, empfängliche Tiere vorgenommen. Dabei ist zweifellos die Splenektomie, die in der experimentellen Blutparasitologie schon seit langem in der Routinediagnostik von Babesiosen angewandt wird, die sicherste von beiden Methoden. Bei der Methode der Rückübertragung stellt sich die Frage, ob die dazu verwendeten Versuchstiere ausreichende Indikatoren darstellen, um in jedem Falle eine Infektion anzuzeigen. Einige Hinweise sprechen dafür, daß schwach virulente Babesienarten auch bei hoch empfänglichen, splenektomierten Wirtstieren nicht zur Infektion führen, sobald Inokula mit sehr geringer Parasitenzahl verabreicht werden. Systematische quantitative Untersuchungen in dieser Richtung stehen jedoch noch aus.

In der vorliegenden Arbeit wurden – in Ermangelung besserer Nachweismethoden – Tiere, deren Rückübertragungsversuch negativ verlief, als parasitenfrei angesehen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß Berenil auch bei extrem hoher Dosierung bei keiner der drei verwendeten Babesienarten mit Sicherheit zu einer *Sterilisatio magna* führte, da in einzelnen Fällen regelmäßig nach der Behandlung Rezidive auftraten.

Im übrigen bestätigen diese Untersuchungen die Beobachtungen, die DENNIG (1973) über die schwache Wirksamkeit von Berenil bei der *Babesia galagolata*-Infektion des *Galagos* machte.

Das Ergebnis von TAYLOR u. M. (1956), RYLEY (1957) und POWAROVA (1969) bei der Behandlung von *Babesia rodhaini*-Infektionen der Maus mit Berenil läßt sich mit dem Resultat meiner Untersuchungen nur schwer vergleichen. Die genannten Autoren verabfolgten das Mittel unmittelbar nach Übertragung der Parasiten. Damit fehlte zum Zeitpunkt der Behandlung ein Parasitenbefall, der in seiner Höhe demjenigen in meinen Versuchen gleichkommt. Leider geben die zitierten Arbeiten keinen Hinweis über die langfristige Wirkung des Medikamentes, insbesondere auf die Ausbildung einer Sterilisatio magna.

Ähnliche Ergebnisse wie meine Untersuchungen ergaben die Therapieversuche, die NAGEL (1973) bei der *Babesia musculi*-Infektion durchführte. Während die Autorin mit 173 mg/kg Kgw. Berenil eine durchschnittlich 14-tägige Parasitenfreiheit erzielte, wurde in den eigenen Versuchen mit 150 mg/kg Kgw. eine 7- bis 14-tägige parasitenfreie Phase erreicht. In beiden Versuchsreihen traten danach parasitäre Rückfälle auf.

Chemotherapie mit Pirodia

Pirodia wurde bei der *Babesia galagolata*-Infektion in der Dosierung von 100 und 300 mg/kg Kgw. verwendet. Dabei zeigte sich weder bei der niedrigen, noch bei der hohen Dosierung eine deutliche Wirkung auf die Parasitämie.

Aus diesem Grund wurde – ebenso wie bei Berenil – auf die Prüfung der chemoprophylaktischen Wirkung des Präparates und auf die Behandlung nicht entmilzter Mäuse verzichtet.

Die Behandlung der Babesia rodhaini-Infektion führte sowohl in der Dosierung von 100 als auch von 300 mg/kg Kgw. bei allen Versuchstieren zu einem schnellen Verschwinden der Parasiten. Bei Verabreichung von 100 mg/kg Kgw. kam es bei einigen Tieren zu geringgradigen Rückfällen, während sich bei den restlichen Versuchstieren eine Sterilisatio magna einstellte. Der Behandlung mit 300 mg/kg Kgw. folgte in jedem Fall eine Sterilisatio magna.

Bei der Babesia musculi-Infektion bewirkte das Mittel in der Dosierung von 100 mg/kg Kgw. eine kurzfristige Parasitenfreiheit gefolgt von schweren Rezidiven mit Todesfällen.

Nach Behandlung mit der höchsten Dosierung (3×100 mg/kg Kgw.) stellten sich bei einem Teil der Tiere parasitäre Rückfälle ein. Bei den restlichen Mäusen ergab der Rückübertragungsversuch, daß latente Infektionen vorlagen.

Damit erwies sich Pirodiazol bei der Behandlung der Babesia galopulata-Infektion als weitgehend unwirksam. Eine stärkere Wirkung entwickelte das Medikament bei der Babesia musculi-Infektion, die nach Verabreichung der höchsten Dosis relativ gut beherrscht, aber nicht ausgeheilt werden konnte. Die stärkste Wirksamkeit hatte Pirodiazol auf die Babesia rodhaini-Infektion, die mit beiden Dosierungen günstig zu beeinflussen war. Während es nach der einfachen Behandlung gelegentlich zu Rezidiven kam, wurde mit der höheren Dosierung ausnahmslos eine Sterilisatio magna erzielt.

Rückblickend läßt sich sagen, daß Pirodiazol bei der Babesia galopulata- und der Babesia musculi-Infektion keine oder nur eine begrenzte Wirkung zeigte, während sich die Babesia

rodhaini-Infektion gut durch das Chemotherapeutikum behandeln ließ.

Ein Vergleich mit den Ergebnissen von Autoren, die ebenfalls die *Babesia rodhaini*-Infektion mit *Pirodia* therapierten, läßt sich - wie bei den Versuchen mit *Berenil* - nur sehr schwer anstellen.

LUCAS (1960) und POWAROVA (1969) verwendeten das Medikament in einer wesentlich geringeren Dosierung, als es in meinen Versuchen verabreicht wurde. Außerdem verabfolgten auch diese Autoren das Therapeutikum unmittelbar nach der Infektion, d.h. ohne daß ein starker Parasitenbefall vorlag. Nach ihren Angaben wurde eine Heilung der Mäuse erzielt. Rückfälle wurden allerdings nicht erwähnt, obwohl die Therapieversuche in wesentlich geringeren Dosierungen als in meinen Versuchen durchgeführt wurden. Ebenso fehlen Hinweise über die Ausbildung einer *Sterilisatio magna*. Es besteht die Möglichkeit, daß das Fehlen dieser Angaben auf eine zu kurze Beobachtungszeit der Mäuse nach der Behandlung zurückzuführen ist. Aufgrund der Ergebnisse meiner Versuche, bei denen parasitäre Rückfälle auch noch nach einer Dosierung von 100 mg/kg Kgw. *Pirodia* auftraten, ist nämlich nicht anzunehmen, daß bei LUCAS (1960) und POWAROVA (1969), die nur mit Mengen von 5,8 bzw. 25 mg/kg Kgw. arbeiteten, Rezidive fehlten oder sich gar eine *Sterilisatio magna* einstellte.

Chemotherapie mit Imidocarb

Imidocarb mußte in geringeren Dosierungen als die zwei vorangegangenen Präparate verwendet werden, da seine Toleranzgrenze wesentlich niedriger lag.

In den geringen Dosierungen von 10 und 20 mg/kg Kgw. führte das Mittel bei der *Babesia galagolata*-Infektion zu 3- bzw. 7 1/2-wöchiger Parasitenfreiheit mit anschließenden parasitären Rückfällen. Imidocarb bewirkte in der maximal tolerierten Dosis von 33 mg/kg Kgw. sowohl bei entmilzten als auch bei nicht entmilzten Mäusen einen schnellen Rückgang des Befalls. Wegen der guten Wirksamkeit des Therapeutikums wurden im Gegensatz zu Berenil und Pirodiaz auch Therapieversuche an nicht entmilzten Tieren vorgenommen. Der Behandlung von splenektomierten Mäusen mit 33 mg/kg Kgw. Imidocarb folgte in allen Fällen eine Sterilisatio magna.

Auch bei nicht entmilzten Mäusen bewirkte die entsprechende Dosierung von Imidocarb bei den meisten Versuchstieren eine Sterilisatio magna, allerdings entwickelte sich in verschiedenen Mäusen auch eine langanhaltende latente Infektion.

Die unterschiedliche Wirkung bei entmilzten und nicht entmilzten Mäusen läßt sich - abgesehen von der relativ kleinen Zahl der Versuchstiere - nur schwer interpretieren. Außer der Methode der Rückübertragung, die - wie schon vorher angedeutet - unter Umständen nicht jede latente Infektion anzeigt, wäre zu überlegen, ob durch die Aktivität der Milz die Wirkung des Medikamentes vielleicht abgeschwächt wird, wodurch ein verminderter Einfluß auf den Parasiten zustande käme. Untersuchungen dieser Art liegen bislang noch nicht vor, so daß auf eine weitere Interpretation dieses Versuchsergebnisses verzichtet werden kann.

Bei der *Babesia rodhaini*-Infektion war ebenfalls eine gute Wirkung von Imidocarb zu beobachten. Die einfache Dosis (33 mg/kg Kgw.) bewirkte bei einem Teil der Tiere eine Sterilisatio magna; bei der dreifachen Menge kam es bei allen Versuchstieren zur Ausbildung

einer Sterilisatio magna.

Die Behandlung der Babesia musculi-Infektion führte zu einem weniger befriedigenden Resultat, da selbst mit der höchsten Dosierung nur eine kurzfristige Parasitenfreiheit erreicht wurde.

Imidocarb übte auf die *Babesia musculi*-Infektion die schwächste und auf die *Babesia galagolata*-Infektion die stärkste Wirkung aus, während das Medikament bei der *Babesia rodhaini*-Infektion nur in höchster Dosierung einen guten Erfolg zeigte.

Nach dem Ergebnis der Untersuchungen kann gesagt werden, daß Imidocarb mit großer Wahrscheinlichkeit bei der *Babesia galagolata*-Infektion eine Sterilisatio magna mit der Dosierung von 33 mg/kg Kgw. und mit 99 mg/kg Kgw. bei der *Babesia rodhaini*-Infektion herbeiführt.

Ein Vergleich des Resultates der vorliegenden Untersuchungen mit dem Ergebnis der Arbeiten von BEVERIDGE (1969) und SCHMIDT u. M. (1969) ist schwierig, weil auch diese Autoren die Versuchstiere unmittelbar nach der Übertragung der Parasiten behandelten, so daß Rückschlüsse auf die Wirkung des Therapeutikums bei hohem Parasitenbefall nicht gezogen werden können. Außerdem wird die Interpretation der Versuchsergebnisse dieser Autoren noch dadurch erschwert, daß keine näheren Angaben über langfristige Beobachtungen gemacht wurden, so z.B. über das Auftreten von Rückfällen oder einer Sterilisatio magna.

Im Gegensatz hierzu ist ein direkter Vergleich mit den Untersuchungen von NAGEL (1973) möglich, da die Autorin die Imidocarb-Behandlung unter gleichen Voraussetzungen durchführte. Das Ergebnis beider Versuchsreihen gleicht sich weitgehend, obwohl NAGEL das Mittel intramuskulär verabreichte, während es in meinen Versuchen sub-

kutan gegeben wurde.

Ein Überblick über die Wirkung der drei Therapeutika führt zur Folgerung, daß *Babesia rodhaini* gegenüber Berenil, Pirodia und Imidocarb die geringste Chemoresistenz aufweist, da dieser Parasit mit allen drei Präparaten bei entsprechender Dosierung wirksam beeinflußt werden kann. Die ausgeprägteste Resistenz zeigt *Babesia galagolata* gegenüber Berenil und Pirodia, während die Infektion gut auf die Behandlung mit Imidocarb anspricht. Im Gegensatz hierzu ist die *Babesia muscoli*-Infektion nur schwer mit Imidocarb zu heilen, während die Behandlung mit Berenil und Pirodia bei entsprechender Dosierung gute Resultate zeigt.

Chemoprophylaxe mit Imidocarb

Die Chemoprophylaxe der *Babesia galagolata*-Infektion wurde an 4 Mäusegruppen 20, 15, 10 und 5 Tage vor der Übertragung der Parasiten mit 33 mg/kg Kgw. Imidocarb durchgeführt. Bei der unbehandelten Kontrollgruppe setzte unmittelbar nach Übertragung der Babesien eine starke Vermehrung ein. Nach durchschnittlich 19 Tagen folgte eine parasitenfreie Phase, die ca. 14 Tage anhielt. Anschließend kam es erneut zu einer heftigen Parasitenvermehrung, der nach durchschnittlich 31 Tagen wiederum eine Parasitenfreiheit folgte.

Bei den Versuchstieren, deren Behandlung 20, 15 und 10 Tage vor der Parasitenübertragung stattfand, entwickelte sich nach der Infektion - im Gegensatz zur Kontrollgruppe - ein nur schwacher Befall, während bei der Gruppe, der das Medikament 5 Tage vor der Parasitenübertragung verabreicht wurde, im Anschluß an die Infektion überhaupt keine Babesien mehr auftraten. Bei allen Mäuse-

gruppen dauerte die parasitenfreie Phase wesentlich länger (42-63 Tage) als bei den Kontrollen (14 Tage). Außerdem wiesen bei der Mehrzahl der behandelten Tiere die parasitären Rückfälle einen geringgradigen Befall auf, während die Parasitämie bei der unbehandelten Gruppe nach der parasitenfreien Phase immer wieder stark anstieg.

Bei Mäusen, die gleichzeitig mit der Übertragung der Parasiten behandelt wurden, waren zu keinem späteren Zeitpunkt Babesien nachweisbar. Die Erklärung für das Fehlen von Parasiten dürfte darin zu suchen sein, daß der hohe Spiegel des Medikamentes zu Beginn der Infektion eine Vermehrung der Babesien von Anfang an verhinderte und die übertragenen Parasiten innerhalb kurzer Zeit ausschaltete.

Bei mehreren meiner Versuchsreihen und auch bei der Arbeit von HÖSL (1974) fällt auf, daß insbesondere *Babesia galagolata*, in geringerem Umfang auch die beiden anderen Babesienarten, über extrem lange Zeiträume hinweg inapparent im Wirt vorkommen. Es stellt sich hierbei die Frage, ob die Parasiten während dieser Zeit ausschließlich im Blut, und zwar in nur schwer nachweisbarer Zahl persistieren, oder ob sie eventuell in bestimmten Organen, und damit inapparent im Blut, eine Art Ruhephase durchlaufen. Entsprechende Untersuchungen fehlen bisher leider.

Das Ergebnis meiner chemoprophylaktischen Untersuchungen mit Imidocarb findet eine Parallele im Versuchsergebnis von TODOROVIC u. M. (1973), die bei der *Babesia bigemina*- und der *Babesia argentina*-Infektion beim Kalb eine eindeutige prophylaktische Wirkung von Imidocarb nachwiesen. Die Autoren ermittelten bei einer Dosierung von 2 bis 3 mg/kg Kgw. Imidocarb einen 20- bis 46-tägigen prophylaktischen Schutz.

Während bislang bei der Bekämpfung der Babesiosen Verbindungen mit einer sicheren chemoprophylaktischen Wirkung nicht bekannt waren, zeichnen sich nach diesen Untersuchungen Möglichkeiten ab, Babesieninfektionen nicht nur in kurativer, sondern auch in prophylaktischer Hinsicht zu beeinflussen. Es bleibt allerdings abzuwarten, ob sich die chemoprophylaktische Wirkung von Imidocarb nur auf die genannten Babesienarten - *Babesia galagolata*, *Babesia argentina* und *Babesia bigemina* - erstreckt, oder ob auch die übrigen Babesienarten betroffen werden.

V. Zusammenfassung

Es wurden Untersuchungen über die Behandlung der *Babesia galagolata*-, *Babesia rodhaini*- und der *Babesia musculi*-Infektion der Maus mit Berenil, Pirodia und Imidocarb durchgeführt.

Bei der *Babesia galagolata*-Infektion führte Berenil nur in hoher Dosierung (3x150 mg/kg Kgw.) zu langdauernden parasitenfreien Phasen. Regelmäßig traten jedoch danach parasitäre Rückfälle auf.

Bei der *Babesia rodhaini*- und der *Babesia musculi*-Infektion entwickelte sich nach entsprechender Dosierung (3x150 mg/kg Kgw.) ein ähnliches Bild, wobei es allerdings häufig zur Ausbildung einer *Sterilisatio magna* kam.

Bei der *Babesia galagolata*-Infektion hatte Pirodia selbst in hoher Dosierung (3x100 mg/kg Kgw.) keinen deutlichen Einfluß auf den Verlauf der Parasitämie.

Bei der *Babesia rodhaini*-Infektion bewirkte das Präparat in der genannten Dosierung (3x100 mg/kg Kgw.) ausnahmslos eine *Sterilisatio magna*.

Bei der *Babesia musculi*-Infektion folgten der Behandlung (3x100 mg/kg Kgw.) lange parasitenfreie Phasen. Regelmäßig traten danach Rückfälle auf.

Bei der *Babesia galagolata*-Infektion führte Imidocarb in hoher Dosierung (33 mg/kg Kgw.) gelegentlich zu langen parasitenfreien Phasen mit Rückfällen. Meistens entwickelte sich jedoch eine *Sterilisatio magna*.

Bei der *Babesia rodhaini*-Infektion bewirkte das Mittel in hoher Dosierung (3x33 mg/kg Kgw.) stets eine *Sterilisatio magna*.

Bei der *Babesia musculi*-Infektion hatte die entsprechende Behandlung

(3x33 mg/kg Kgw.) regelmäßig Rezidive zur Folge.

Imidocarb zeigte bei der *Babesia galagolata*-Infektion in der Dosierung von 33 mg/kg Kgw. eine prophylaktische Wirkung von 42 bis 63 Tagen.

Summary

Investigations into the chemotherapy of *Babesia galagolata* infections in mice.

Investigations were carried out into treatment of *Babesia galagolata*, *Babesia rodhaini* and *Babesia musculi* infections in mice with Berenil, Pirodina and Imidocarb.

In *Babesia galagolata* infections high doses (3x150 mg/kg bw.) of Berenil resulted in long continuous parasite-free periods. Relapses, however, occurred regularly.

In *Babesia rodhaini* and *Babesia musculi* infections the same dosage (3x150 mg/kg bw.) led to similar results, but often a sterilisatio magna could be observed.

The course of parasitemia in *Babesia galagolata* infected mice was not influenced by Pirodina even with a high dosage (3x100 mg/kg bw.), while it always led to a sterilisatio magna in *Babesia rodhaini* infections.

Pirodina treatment (3x100 mg/kg bw.) of *Babesia musculi* infections resulted in parasite-free periods, but relapses occurred in all cases.

In *Babesia galagolata* infections high doses (33 mg/kg bw.) of Imidocarb resulted in most of the cases in a sterilisatio magna, but occasionally relapses occurred after a long parasite-free period.

With Imidocarb (3x33 mg/kg bw.) a sterilisatio magna was achieved in all *Babesia rodhaini* infections, while the same dosage led to relapses in *Babesia musculi* infected mice.

Imidocarb (33 mg/kg bw.) showed a prophylactic effect of 42 to 63 days against *Babesia galagolata* infections.

VI. Literaturverzeichnis

1. Bauer, F.: Über die Behandlung von Babesien-Infektionen mit Berenil^R.
Die Blauen Hefte 33, 7-13 (1967)
2. Berghe, L. van den, Vincke, I. H., Chardome, M., Bulcke, M. van den:
Babesia rodhaini n.sp. d'un rongeur du Congo Belge transmissible à la souris blanche.
Ann.Soc.belge Méd.trop. 30, 83-86 (1950)
3. Beveridge, E.: Babesia rodhaini: A useful organism for the testing of drugs designed for the treatment of piroplasmosis.
Ann.trop.Med.Parasit. 47, 134-138 (1953)
4. Beveridge, E.: Babesicidal effect of basically substituted carbanilides. II. Imidocarb in rats and mice: Toxicity and activity against Babesia rodhaini.
Res.Vet.Sci. 10, 534-537 (1969)
5. Colas-Belcour, J., Vervent, G.: Quelques observations sur des souris ayant survécu à leur infection par Babesia (Nuttallia) rodhaini van den Berghe, Vincke, Chardome et van den Bulcke 1950.
Bull.Soc.Path.exot. 46, 34-39 (1953)
6. Cox, F. E. G., Young, A. S.: Acquired immunity to Babesia microti and Babesia rodhaini in mice.
Parasitology 59, 257-268 (1969)
7. Dennig, H. K.: Chemotherapy of protozoal tick-borne diseases.
FAO/OIE Ad hoc consultation on control of protozoal tick-borne diseases of cattle, Nairobi (1972)
8. Dennig, H. K.: Babesia galagolata n.sp., eine Babesienart des Galagos (Galago crassicaudatus).
Z. Parasitenk. 41, 281-290 (1973)
9. Dennig, H. K., Hösl, G.: Babesia galagolata und ihre Wirtsspezifität.
6. Symposium of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Wien (1973)

10. Hösl, G.: Untersuchungen zur Wirtsspezifität von *Babesia galagolata*.
Vet. med. Diss. München (1974)
11. Lucas, J. M. S.: The chemotherapy of experimental babesiasis in mice and splenectomized calves.
Res. Vet. Sci. 1, 218-225 (1960)
12. Muratov, E. A.: Blood parasite of the house mouse (*Mus musculus* Lin.) belonging to the genus *Nuttallia franca*.
Doklady an Tadzhikskoi SSR 9 (5), 34-37 (1966)
(in englischer Übersetzung)
13. Nagel, M. L.: Untersuchungen zur *Babesia musculi*-Infektion in der Laboratoriumsmaus unter besonderer Berücksichtigung der Wirtsspezifität und Chemotherapie.
Vet. med. Diss. München (1973)
14. Nöller, H. G.: Die Blutentnahme aus dem retroorbitalen Venenplexus.
Klin. Wschr. 33, 770-775 (1955)
15. Nowell, F.: The blood picture resulting from *Nuttallia* (*Babesia*) *rodhaini* and *Nuttallia* (*Babesia*) *microti* infections in rats and mice.
Parasitology 59, 991-1004 (1969)
16. Powarova, L. N.: Comparison of the activity of some chemotherapeutic drugs in mice infected with *Babesia rodhaini*.
Trudy Nauchnokontrol. Inst. Vet. Preparatov 16, 349-352 (1969)
17. Rodhain, J.: Sur la pluralité des espèces de *Babesia* des rongeurs. A propos de la spécificité de *Babesia rodhaini*, van den Berghe et al.
Ann. Inst. Pasteur 79, 777-785 (1950)

18. Ryley, J.R.: The chemotherapy of Babesia infections.
Ann. trop. Med. Parasit. 51, 38-49 (1957)
19. Schmidt, G., Hirt, R., Fischer, R.: Babesicidal effect of basically substituted carbanilides. I. Activity against Babesia rodhaini in mice.
Res. Vet. Sci. 10, 530-533 (1969)
20. Shortt, H.E., Blackie, E.J.: An account of genus Babesia as found in certain small mammals in Britain.
J. trop. Med. Hyg. 23, 37-42 (1965)
21. Taylor, A.E.R., Terry, R.J., Godfrey, D.G.: The action of some trypanocidal and antimalarial compounds on Babesia rodhaini (Piroplasmidae).
Brit. J. Pharmacol. 11, 71-73 (1956)
22. Todorovic, R.A., Vizcaino, O.G., Gonzalez, E.F., Adams, L.G.: Chemoprophylaxis (Imidocarb) against Babesia bigemina and Babesia argentina infections.
Amer. J. vet. Res. 34, 1153-1161 (1973)

An dieser Stelle möchte ich dem Vorstand des Institutes, Herrn Professor Dr. J. Boch, für die Möglichkeit zur Durchführung meiner Arbeit und die ausgezeichneten Arbeitsbedingungen im Institut danken.

Desgleichen gilt mein Dank Herrn Professor Dr. H. K. Dennig für die Überlassung des Themas und seine jederzeit gern gewährte Anleitung und Unterstützung bei der Anfertigung meiner Arbeit.

Weiterhin danke ich Fräulein D. Denk und Fräulein A. Heinrich für die bereitwillige Hilfe bei technischen Fragen.

Lebenslauf

Am 11. Oktober 1947 wurde ich als zweite Tochter des Chirurgen Dr. med. Rudolf Frère und seiner Ehefrau Christa, geb. Kredel, in Wiesbaden geboren. Nach Besuch der Volksschule wechselte ich 1958 in das Helene-Lange-Gymnasium über, wo ich 1967 die Reifeprüfung ablegte. Im Wintersemester 1967/68 begann ich mit dem Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Universität Gießen. Zu Beginn des Wintersemesters 1970/71 setzte ich meine Ausbildung an der Universität München fort, wo ich am 7. März 1973 das Staatsexamen bestand. Die Bestallung als Tierärztin erhielt ich am 30. April 1973.

